常用参照標準物質：JSCC 常用酵素 Lot 001b の更新概要
Outline of New Lot of Reference Standard of　JCCLS Certified Reference Standard for Enzyme of JSCC method

桑　克彦（平成 19 年度 JCCLS 認証委員会・標準物質小委員会 委員長）
Katsuhiko Kuwa(Chairperson, Subcommittee of Reference Materials of Committee of Certification on JCCLS，2007,)

平成 19 年度 JCCLS 認証委員会標準物質小委員会
Subcommittee of Reference Material of Committee of Certification on JCCLS, 2007

桑　克彦（筑波大学大学院)、関口　光夫（前日本大学板橋病院臨床検査部)、細萱　茂実（日本臨床衛生検査技師会：山梨大学医学部附属病院検査部)、大澤　進（九州大学大学院)、美崎英生（日本臨床化学会：(株）カイノス)、間部杉夫（日本分析機器工業会：オリンパス光学工業（株))、小林　隆（日本臨床検査薬協会：栄研化学（株))、梅本　雅夫（(中法)検査医学標準物質機構)、植田　成（旭化成ファーマ（株))、吉海　毅（ロッシュ・ダイアグノスティックス㈱)

常用参照標準物質（JCCLS CRM-001a）(旧名 Lot 5)のロットの更新を行い、新ロット（JCCLS CRM-001b）(旧名 Lot 6)の設定作業を行ったので、その概要を示す。

なお、本ロットから本標準物質の名称および記号を新たに系統的な扱いとした。また、設定手順および認証書のフォーマットおよび認証値の不確かさの算出についても国際文書にしたがって準備した。

経過の概略

１．候補品製造の公募

常用参照標準物質 : JSCC 常用酵素（旧(ERM)のロットの更新にあたっては、候補品製造の公募を平成 19 年５月１日に行った。公募内容は、前ロットの設定条件および規格を継続することとした。

なお、本公募は、コリンエステラーゼと JSCC 常用酵素の２種について同時に行った。また、候補品製造の公募日は、前ロットと同様に候補品の製造期間を考慮した。

２．公募結果

JSCC 常用酵素の候補品製造の応募が旭化成ファーマ㈱からあった。これにより候補品製造について製造を旭化成ファーマに依頼した。

３．値付け作業

値付け作業は、前ロットと同様に共同実験方式による手順で進めた。すなわち１）共同実験への参加依頼、２）試薬調製依頼、３）実施要綱、測定条件、報告書フォーマットの作成、４）試料配布、５）データ集計・解析、６）標準物質小委員会の開催などである。標準物質小委員会では、データの解析と認証書案の作成について行った。作成した認証書案および取扱説明書案は認証委員会に提出した。

４．標準物質小委員会での協議のまとめ

平成 20 年 6 月 6 日に標準物質小委員会を開催し、測定データの解析と認証書案および取扱説明書案の作成を行った。本委員会における主な協議の概略は、以下のごとくである。

・試薬作製は前 Lot と同じ企業に依頼した。すなわち AST と ALT は和光純薬、CK とγ-GT は関東化学、LD はシノテスト、ALP はカイノス、AMY、P-AM および Lipase はロシュ・ダイアグノスティックスでそれぞれ行った。

・測定は用手法と自動化法について新旧の Lot で実施した。自動化法は前 Lot でキャリブレーションを行い、認証値算出のデータとした。なお、不確かさの算出は、不確かさの計算ソフトを使用した。

・ALP の試薬 pH のずれについての指摘があったが、実際に測定値は差がないことから問題はないと考えられる。この場合、用手法では問題が見えるがキャリブレーションを実施する場合には問題が見えなくなる。試薬調製を依頼した会社からは、pH のずれはないとの連絡があった。

・配布資料中の各測定値の不確かさの大きさは、不確かさ計算ソフト Version5-52 を用いたものであり、これは企業が自社のキャリブレータに値付けをする際に使用するもので、前 Lot の不確かさを継続して加えて行くので、不確かさが大きくなってしまう。今回のように最上位の RM の不確かさ算出には適していない。したがって当該のもので再計算した。

・保存安定性の不確かさは、今までは別途に取り扱ってきたが、今回はそれも含め本来の不確かさとした。この扱いは、すでに IRMM の CRM にも導入されているものである。従来の不確かさに比べ保存安定性の成分を含む分だけ大きくなることになる。

従来は保存安定性のデータが不十分であったので、脚注に示していたが、本 Lot からは本来の形に戻すこととした。

・用手法の結果に対して５％以上ずれているデータがあった。CK では実測 K 値が低め、AMY でも前回と同様な傾向を示し、差が見られた。これは初期設定の Lot２のときのずれをそのまま引きずっているものである。

・ALP と CK は試薬などに由来する問題があると考えられるので、見直しの検討が必要になるかもしれない。また、将来的には用手法に代わる良い測定手段を設計する必要がある。例えば、モデルとなるような分析装置を開発するなどである。優れたパーツを組合せて分析機を設計するなどの作業を進めていく必要がある。勧告法は試薬量が多いので、余り厳

しい分注精度などは要求されない。

・用手法ができる施設も少なくなっており、今後は、Reference Lab を数施設に限定し、後は自動化法で実施するやり方も考える必要がある。Reference Lab の候補としてはReCCS や旭化成ファーマ等が該当する。

・配布資料の用手法のデータでは LD、CK、AMY、ALP 等で、ばらつきが大きかった。その他は CV３％以内であった。将来、Reference Lab を認定する場合には、技術レベルの評価も必要になる。

・ALP の試薬調製については、指定された同じ buffer（EAE : 関東化学製)を使用していた。

・配布資料の安定性の不確かさについて協議した。このやり方は IRMM が実施している方法である。このデータは２年間および３年間の実データをもとにその値を外挿して、3.5 年および 5 年間の安定性を予測しているものである。このデータの見方は、過去のデータを基に 2 年間、3 年間の回帰直線から安定性を推定する方法であり、回帰直性の傾きがマイナスにならないので、劣化はないと予測できる。標準誤差の使用の前提として傾きの有意性の検定がある。短期間では安定性に有意差が出てくるが、長期間では出てこないので、今回のデータからは長期間の安定性で評価した方がより正確であると考えられる。

短期的には上昇傾向がみられるが、長期になると平行傾向になることから、長期安定性の評価が成立すると考えられる。

従来は加速試験が一般的であったが、この方法は人工的に厳しい条件設定となるので、これを改良した方法として、本法が考案されたものである。今回から、安定性に不確かさをこの方法で求めて、認証値の不確かさに加味することした。

・不確かさの要因別の結果は、認証試験、バイアル間差、安定性の 3 群に分けてみると安定性の要因が一番大きくなる。

・以上のことから認証値と不確かさは以下の通りとなる。

AST 169±4 U/L , ALT 169±4 U/L ,LD 430±8 U/L, CK 455±10 U/L, γ-GT 155±5 U/L, ALP 436±13 U/L, AMY 355±9 U/L。

また、参考値としては P- AMY 166±5 U/L 、LIP 145±5 U/L である。

・認証値の不確かさの大きさは、今回のロットでは、前ロット（Lot 5）に比較すると安定性が含まれるので、約 2 倍またはそれ以上となる。これまで、試薬メーカーのキャリブレータなどには、不確かの成分に安定性は加えていないので、不確かさが過大評価されてしまう可能性がある。

・IRMM では不確かさの成分に輸送時の温度変化(Transfer Stability)による影響も加えている。日本の場合にはこの要因は考慮する必要はないが、日本から世界に標準物質を提供する場合にはこの要因を見積もる必要がある。

・認証値は前述の通りとし、「＊認証値は、ISO Guide35 に基づいた方法により決定した。不確かさの成分は、均質性、実験誤差および安定性を含む総合的な拡張不確かさ（包含係数 k=2）として示した。」を脚注に記述することとする。

そのためのお知らせ文を12月まではInsertとしてReCCSで包装してもらうこととした。
また、JCCLSのホームページにもその旨を掲載することとした。
なお、お知らせ文は委員長が文面を準備することとし、以下のごとくとした。
「常用参照標準物質：JSCC常用酵素JCCLS　CRM-001ｂ」の認証値の拡張不確かさは、本ロットより以下のごとく変更致しましたので、お知らせ致します。
「不確かさの成分は、均質性と実験誤差および安定性を含む総合的な拡張不確かさ（包含係数k＝２）として示した。」
すなわち、前ロットまでは安定性の成分を認証書の認証値の表の脚注とし、別扱いにしておりましたが、本ロットより国際規格に準じて、認証値の不確かさの成分に加えました。
なお、本標準物質の名称につきましては、VIM（国際計量用語集）の３版（2007年）に従って変更致しました。」

・CRM-001bから不確かさが大きくなるので、その臨薬協としての対応は企業側に一任せる。この場合、企業側としては個々に対応するのではなく、全体で対応したいとの要望があった。
・今後のスケジュールは、今日の会議をもって印刷物の作成を開始して、ぎりぎりに今月末に間に合うスケジュールとなる。
そこで認証委員会を早急に開催するために、2008年6月16日(月)午後1時から開催することとした。また、認証日の日付は6月16日とすることを提案する。
・P-AMYは、勧告法がJSCCで手続き中にて、今回も参考値扱いとなる。また、Lipaseは基準測定操作法が検討中であることから、参考値扱いとなる。
・安定性の根拠となった文献は、認証書に記載する。文献の上から4番目に入れる。
・認証標準物質による「測定値の真度評価と許容限界について」は、「認証標準物質とコミュータビリティ（反応性）が取れた検査試薬に適用ができる。」の対応について委員から要望があった。これについては、最近の外部精度評価結果を含めて再度数値を検討していただき、その結果を前回と同様に提示することとした。ホームページにも掲載する。
・今回作製するロット001bは約5000本で有効期間は2012年までである。
・今回協議した標準物質の安定性の不確かさの評価方法についてはJSCCにプロジェクト申請をする。

５．認証委員会

６月16日に開催の認証委員会において認証書および取扱説明書について確認と承認を行った。また、併せてこれに先立って開催された標準物質小委員会の議事内容についても確認した。

本委員会において、認証書に記載する認証委員会の委員長名については、平成20年度から委員長の交代が行われることから、本新ロットについて作業を実施してきたこれまでの委員会の委員長名と、今後、本標準物質をフォローして行く次期認証委員会の委員長名の

両名併記とした。

なお、認証書および取扱説明書は、別掲を参照されたい。

最後に今回のロットの更新作業は、平成 19 年度 JCCLS 認証委員会標準物質小委員会が担当した。また、測定の実施についての試薬などの準備は（社）日本臨床検査薬協会・技術委員会を通じてお願いした。さらに、共同実験に際しては以下のユーザー施設ならびにメーカー施設の協力を得た。ここに関係者に深く謝意を表します。

株式会社カイノス　研究所
栄研化学株式会社　品質管理部ドライ生化学グループ
関東化学株式会社　伊勢原研究所、同社ライフサイエンス部
株式会社シノテスト　品質管理部
積水メディカル株式会社　検査事業部門営業部カスタマーサポートセンター分析グループ
ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社　品質管理グループ
和光純薬工業株式会社　臨床検査薬研究所
筑波大学附属病院　検査部
日本大学医学部付属練馬光が丘病院　臨床検査部
天理よろづ相談所病院　臨床病理部
九州大学病院　検査部
（中法）検査医学標準物質機構
浜松医科大学医学部附属病院　検査部
千葉大学医学部附属病院　検査部
慶應義塾大学病院　中央臨床検査部
山梨大学医学部附属病院　検査部
順天堂大学医学部附属順天堂浦安病院　検査科
デンカ生研株式会社　試薬品質管理部　CI 品質検査室
日水製薬株式会社　診断薬品証技術部
株式会社セロテック　江別研究所
シスメックス国際試薬株式会社　品質管理部
株式会社三菱化学ヤトロン　品質管理課
東京大学医学部附属病院　検査部
旭化成ファーマ株式会社　診断薬製品部　開発研究グループ